Mouse anti-Epidermal Growth Factor Receptor (EGFr) Clone: 31G7

For In Vitro Diagnostic Use
Lot No.

[X] 08-4205 10 mL V-Line Predilute (Ready-to-Use) Antibody

Optimized For Ventana® ES™, NexES® and BenchMark™ Immunohistochemistry Staining Systems

INTENDED USE

For In Vitro Diagnostic Use

Invitrogen's monoclonal Mouse anti-Epidermal Growth Factor Receptor (EGFr) antibody is intended to qualitatively stain squamous cell carcinoma in frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Interpretation must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

BACKGROUND

The epidermal growth factor receptor (EGFr, HER-1, c-*erb*B-1) is a 170 kDa transmembrane protein consisting of an extracellular EGF-binding domain, a short transmembrane region, and an intracellular domain with ligand-activated tyrosine kinase activity.[1] Two ligands can activate EGFr: epidermal growth factor (EGF) and transforming growth factor-alpha (TGF-α). When TGF-α binds to EGFr, receptor tyrosine kinase activity is upregulated, producing phosphorylation and an increase in cytosolic calcium within target cells. This triggers increased synthesis of DNA and the proliferation and differentiation of target cells.[2] TGF-α is thus an important effector of malignant transformation in a variety of cells.[3]

EGFr is expressed in many normal epithelial tissues, particularly in the basal layers of stratified epithelium and in squamous epithelium.[4-6] In normal tissues, Invitrogen's monoclonal anti-EGFr (clone: 31G7) stains epidermal cells of skin, esophagus, kidney, testis, placenta, and prostate. Positive staining appears as a linear to finely granular pattern in the cell membrane and adjacent cytoplasm, or as coarsely granular cytoplasmic staining.[5] Invitrogen's 31G7 antibody reacts with EGFr, and does not recognize the highly homologous c-*erb*B-2 (HER-2) protein. Western blotting analysis with an EGFr vIII-transfected NIH-3T3 cell line confirmed that clone 31G7 recognizes the 145 kDa variant III form of EGFr in addition to recognizing the wild type form of EGFr.

Over-expression of EGFr has been observed in many types of neoplasia, as the result of gene amplification and/or increased protein transcription. EGFr over-expression has been detected in endometrial carcinoma, correlated with myometrial invasion,[7] in lung neoplasms including metaplastic squamous epithelium,[4] squamous cell carcinoma,[4] adenocarcinoma, and neuroendocrine lung tumors,[8] and in glioblastoma multiforme brain tumors.[9] EGFr expression has also been reported in most head and neck carcinomas.[10] Variable EGFr expression has been positively correlated with increasing tumor stage in transitional bladder, renal cell, and gastric carcinomas,[11] and in inverse correlation to estrogen receptor (ER)-negative tumor status in breast carcinoma.[12]

REAGENT PROVIDED

Mouse anti-EGFr antibody (clone: 31G7) is purified from mouse ascites and diluted in phosphate buffered saline (PBS), pH 7.4, and 1% bovine serum albumin (BSA) with 0.1% sodium azide (NaN_3) as a preservative.

Immunogen: Human EGFr derived from A-431 cells

Total protein concentration: g/L

Clone: 31G7

Isotype: IgG_1

Antibody concentration: mg/L

STORAGE: 2-8°C

POSITIVE CONTROL TISSUE: Breast carcinoma

EXPECTED STAINING PATTERN: Cell membrane and cytoplasm

REQUIREMENTS FOR IMMUNOHISTOCHEMISTRY STAINING:

Invitrogen's V-Line Predilute was developed for use with the Ventana® ES™, NexES® and BenchMark™ Immunohistochemistry Staining Systems in combination with Ventana® Detection Kits and Ventana® Reagent Dispensers. Invitrogen® has titered and quality controlled this antibody to assure consistent and reliable performance. Table 1 summarizes the requirements for immunostaining.

Table 1

Requirement for FFPE Tissues	Specification
HIER (Heat Induced Epitope Retrieval)	Not Required
Enzyme Digestion	Protease I
Enzyme Incubation	8 minutes
Primary Antibody Incubation	32 minutes

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

	Reagent	Catalog No.
1.	HistoGrip™	00-8050
2.	Antibody Diluent	00-3118
3.	PBS (0.01 M PBS)	00-3000
4.	Citrate Buffer pH 6.0 (**if required for HIER**)	00-5000
5.	EDTA Solution (**if required for HIER**)	00-5500

6. Ventana® ES™, NexES® or BenchMark™ Immunohistochemistry Staining Systems
   - Bar Code Labels
   - ES™, NexES® or BenchMark™ Automated Slide Stainer
   - DAB or AEC Detection Kit
   - Detection Kit specific software
   - Wash Solution
   - Negative Control Reagent
   - Liquid Coverslip
7. Mounting solution: Histomount™ (for DAB: Cat. No.00-8030), GVA (for AEC, or Fast-Red: Cat. No. 00-8000), or Clearmount™ (for AEC, DAB, or Fast-Red: Cat. No. 00-8010).

SPECIMEN PREPARATION

1. Use tissue fixed in 10% neutral buffered formalin or other fixative on regular basis, or frozen tissue sections.
2. Cut 3-4 µm sections and place on positively charged slides.
3. Dry overnight at 37° C or for 2-4 hrs at 58°C.

PRETREATMENT

Heat Induced Epitope Retrieval (HIER), if required

1. Deparaffinize slides. Tissue sections should be mounted on silane, poly-L-Lysine, or HistoGrip (Cat. No. 00-8050) coated slides.
2. Wash slides with distilled water 3 times for 2 min each.
3. Place a 1L glass (Pyrex) beaker containing 500 mL of 0.01 M citrate buffer (Cat. No. 00-5000) or EDTA solution (Cat. No. 00-5500) on a hot plate. Heat the buffer solution until it boils. *(This step may be prepared before slide deparaffinization, as the buffer may take several minutes to boil).*
4. Put the slides in a slide rack and place in the beaker with boiling buffer. Keep it boiling for 15 minutes.
5. After heating, remove beaker from the hot plate and allow it to cool down for at least 15-20 minutes at room temperature.
6. Rinse slides with PBS (Cat. No. 00-3000) and begin the immunostaining protocol.

Enzyme Digestion, if required

1. See Table 1 for specific enzyme digestion requirement and incubation time.

LOADING THE USER DEFINED DISPENSER

The following procedure is recommended by Invitrogen® for filling the Ventana® Reagent Dispensers with Invitrogen's V-Line Predilute. Please refer to the Ventana® Operator's Manual for further clarification.

1. Remove the plug at the end of the Ventana® Transfer Syringe, then remove the plunger completely from the barrel and put the plug back on the syringe barrel.
2. Appropriately label the Ventana® Reagent and Transfer Syringe with the Invitrogen® antibody in use.
3. Pour the enclosed vial of V-Line Predilute (10 mL, ready-to-use antibody) into the barrel of the Ventana® Transfer Syringe, then put the plunger back into the barrel.
4. Invert the Ventana® Transfer Syringe by positioning the plug upwards and the plunger downward. Then remove the plug.
5. Displace the air out of the Ventana® Transfer Syringe by carefully pushing the plunger towards the plug.
6. Now, remove the plug from the Ventana® Reagent Syringe tip.
7. Attach the Ventana® Reagent Syringe nozzle to the Ventana® Transfer Syringe nozzle.
8. Dispense antibody from the Ventana® Transfer Syringe into the Ventana® Reagent Syringe. The maximum amount held by the Ventana® Reagent Syringe is 12.5 mL which provides approximately 120 tests.
9. Place the enclosed Invitrogen® label onto the Ventana® Reagent Syringe.

Invitrogen's V-Line Predilute antibody is ready for use with the Ventana® ES™, NexES® and BenchMark™ Immunohistochemistry Staining Systems. For specific details on operation and sequence of events of the Ventana® ES™, NexES® and BenchMark™ Immunohistochemistry Staining Systems refer to the respective and appropriate Ventana® Operator's Manual.

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

COUNTERSTAINING & PRESERVATION

Protocol	Time
Counterstain with hematoxylin	1-2 Minutes
Wash in tap water with several changes until water bath remains clear	
Place in blueing solution (i.e., 10 mM PBS, pH 7.4) with 2 changes	15-20 Seconds
Wash in distilled water with 2 changes	3 Minutes Total
Dehydrate sequentially in 70%, 95%, 95%, 100% and 100% EtOH. Then in xylene and xylene (Do not dehydrate when using AEC)	2 Minutes Each
Apply coverslip with Histomount™ Mounting Solution (Use GVA Mounting Solution when using AEC)	
Allow to dry before viewing	10 Minutes

TROUBLESHOOTING

Problem	Solution
Positive control shows weak immunostaining	Check other positive controls prepared during the same instrument run to determine if it is due to the primary antibody or to one of the common secondary reagents.
Positive control is negative	Assure that the slide has proper Ventana® Bar Coding Label. If it is labeled properly, check other positive controls prepared during the same instrument run to determine if it is due to the primary antibody or one of the common secondary reagents.

REFERENCES

1. Cohen S, et al. *J Biol Chem* 257:1523-1539, 1982.
2. Chen WS, et al. *Cell* 59:33-43, 1989.
3. Pusztai L, et al. *J Pathol* 169:9-14, 1993.
4. Ozane B, Richardson CS. *J Pathol* 149:191-201, 1986.
5. Gusterson B, et al. *Cell Biol Int Rep* 8:649-658, 1984.
6. Damjanov I, et al. *Lab Invest* 55(5):588-592, 1986.
7. Niikura H, et al. *Human Pathol* 27(3):282-289, 1996.
8. Rusch V, et al. *Ann Thorac Surg* 62:798-810, 1996.
9. Agosti RM, et al. *Virchows Arch Pathol Anat* 420:321-325, 1992.
10. Christensen ME. *Danish Med Bull* 45(2):121-134, 1998.
11. Neal DE, et al. *Lancet* 1:366-368, 1985.
12. Toi M, et al. *Int J Cancer* 43:220-225, 1989.

TRADEMARKS
Cap-*Plus*™, Clearmount™, Digest-All™, HistoGrip™, Histomount™, and Histostain®, NBA™, *PicTure*™, and Zymed® are trademarks of Zymed Laboratories, Inc. Ventana® ES™, NexES® and BenchMark™ are trademarks of Ventana® Medical Systems, Inc.

V-Line antibodies are developed solely by Zymed® Laboratories, Inc. and do not imply approval or endorsement by Ventana® Medical Systems, Inc. Zymed® and Ventana® are not affiliated, associated or related in any way.

Authorized Representative for IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd.
Inchinnan Business Park
3 Fountain Drive
Paisley
PA4 9RF
UK

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

Anticuerpo EGFr de ratón, Clon 31G7

Para utilización en diagnóstico in vitro

[X] 08-4205 10 mL Anticuerpo prediluido V-Line (listo para usar)

Optimizado para los sistemas de tinción inmunohistoquímica Ventana® ES ™, NexES® y BenchMark ™

PROPÓSITO DE USO

Para utilización en diagnóstico in vitro. La interpretación de los resultados debe realizarla un patólogo cualificado, dentro del contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

REACTIVO SUMINISTRADO

El anticuerpo EGFr de ratón se purifica a partir de fluido de ascitis en ratón y se diluye en tampón fosfato (PBS), Ph 7,4, y seroalbúmina bovina al 1% (BSA) con azida de sodio al 0,1% (NaN_3) como conservante.

Inmunogén: EGFr humano derivado de las células A-431

Isotipo: IgG_1

Clon: 31G7

Control positivo: Carcinoma de mama

Pauta de tinción esperada: membrana celular y citoplasma

ALMACENAMIENTO: 2-8°C

REQUISITOS PARA LA TINCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA:

El prediluido V-Line de Invitrogen fue creado para usarse con los sistemas de tinción inmunohistoquímica Ventana® ES™, NexES® y BenchMark™ juntamente con los Equipos de detección Ventana® y los dispensadores de reactivo Ventana®. Invitrogen® ha realizado la valoración y controlado la calidad de este anticuerpo para garantizar un rendimiento uniforme y fiable. La Tabla 1 resume los requisitos para la inmunotinción.

Tabla 1

Requisitos para Tejido FFPE	**Especificación**
Eliminación de Epítope Inducida por Calor (HIER)	No Necesaria
Digestión enzimática	Protease I
Incubación enzimática	8 minutos
Incubación del anticuerpo primario	32 minutos

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADO

Reactivo	Nº. de catálogo
1. HistoGrip™	00-8050
2. PBS (PBS 0,01 M)	00-3000
3. Hematoxilina de Mayer	00-8011
4. Tampón citrato pH 6,0 (**si se necesita para HIER**)	00-5000
5. Solución EDTA (**si se necesita para HIER**)	00-5500

6. Sistemas de tinción inmunohistoquímica Ventana® ES™, NexES® o BenchMark™
    - Etiquetas de códigos de barras
    - Tinte de portaobjetos automatizado ES™, NexES® o BenchMark™
    - Equipo de detección DAB o AEC
    - Software específico para el Equipo de detección
    - Solución de lavado
    - Reactivo para control negativo
    - Cubreobjetos líquido
7. Solución de montaje: Histomount™ (para DAB: nº. de cat. 00-8030), GVA (para AEC, o para Fast-Red: nº. de cat. 00-8000), o Clearmount™ (para AEC, DAB, o Fast Red: nº. de cat. 00-8010).

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Utilizar tejido fijado en formalina neutra tamponada al 10% u otro fijador general, o cortes de tejido congelados.
2. Hacer cortes de 3-4 µm y colocarlos sobre los portaobjetos cargados positivamente.
3. Secar durante toda la noche a 37ºC o de 2 a 4 horas a 58ºC.

PRETRATAMIENTO

Eliminación de Epítope Inducida por Calor (HIER), en caso necesario

1. Proceder con la desparafinación de las muestras. Los cortes de tejido deberían montarse sobre portaobjetos cubiertos de silano, poli-L-lisina o HistoGrip (nº. de cat. 00-8050).
2. Lavar los portaobjetos con agua destilada 3 veces, durante 2 minutos cada vez.
3. Poner un vaso de precipitados (Pyrex) de 1 litro con 500 mL de tampón de citrato 0,01 M (nº. de cat. 00-5000) o solución de EDTA (nº. de cat. 00-5500) en una placa de calor. Calentar la solución tampón hasta que hierva. ***(Este paso se puede preparar antes de la desparafinación de los portaobjetos, puesto que pueden pasar varios minutos antes de que hierva el tampón).***
4. Colocar los portaobjetos en una rejilla de soporte para portaobjetos y ponerlos en el vaso de precipitados con el tampón hirviendo. Déjelo hervir durante 15 minutos.
5. Después de calentar, retire el vaso de precipitado de la placa de calor y déjelo que se enfríe a temperatura ambiente durante al menos 15 ó 20 minutos.
6. Enjuagar los portaobjetos con PBS (nº. de cat. 00-3000) y proceda con el protocolo de inmunotinción.

Digestión enzimática, en caso necesario

1. Consulte la Tabla 1 para ver el requisito específico de digestión enzimática y el tiempo de incubación.

CARGA DEL DISPENSADOR DEFINIDO POR EL USUARIO

Invitrogen recomienda el siguiente procedimiento ® para llenar los dispensadores de reactivo Ventana® con el prediluido V-Line de Invitrogen. Consulte el Manual del Usuario de Ventana® para obtener más información.

1. Retire el tapón del extremo de la Jeringa de transferencia Ventana®, luego retire el émbolo por completo del cilindro y vuelva a colocar el tapón en el cilindro de la jeringa.
2. Coloque una etiqueta a la Jeringa de reactivo y transferencia Ventana® indicando el anticuerpo Invitrogen® utilizado.
3. Vierta la ampolla que se adjunta de prediluido V-Line (10 mL, anticuerpo listo para usar) en el cilindro de la Jeringa de transferencia Ventana®, luego vuelva a colocar el émbolo en el cilindro.
4. Invierta la Jeringa de transferencia Ventana® colocando el tapón hacia arriba y el émbolo hacia abajo. Luego retire el tapón.
5. Haga salir el aire de la Jeringa de transferencia Ventana® empujando cuidadosamente el émbolo hacia el tapón.
6. Ahora, retire el tapón de la punta de la Jeringa de reactivo Ventana®.
7. Conecte la boquilla de la Jeringa de reactivo Ventana® a la boquilla de la Jeringa de transferencia Ventana®.
8. Dispense anticuerpo de la Jeringa de transferencia Ventana® hacia la Jeringa de reactivo Ventana®. La cantidad máxima que puede contener la Jeringa de reactivo Ventana® es 12,5 mL; lo cual es suficiente para unas 120 pruebas.
9. Coloque la etiqueta Invitrogen adjunta® en la Jeringa de reactivo Ventana®.

El anticuerpo prediluido V-Line de Invitrogen está listo para usar con los sistemas de tinción inmunohistoquímica Ventana® ES™, NexES® y BenchMark™. Para obtener detalles específicos sobre el funcionamiento y la secuencia de procedimientos de los sistemas de tinción inmunohistoquímica Ventana® ES™, NexES® y BenchMark™ consulte los manuales del usuario correspondientes y respectivos®.

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

CONTRATINCIÓN Y CONSERVACIÓN

Protocolo	Tiempo
Contratinción con hematoxilina	1-2 minutos
Lavar en agua corriente con varios cambios, hasta que el baño de agua permanezca limpio	
Colocar en solución azulante (es decir, 10 mM PBS, pH 7,4) con 2 cambios	15-20 segundos
Lavar en agua destilada con 2 cambios	3 minutos en total
Deshidratar secuencialmente en EtOH 70%, 95%, 95%, 100% y 100%. Luego en xileno y xileno (no deshidratar al usar AEC)	2 minutos cada uno
Aplicar cubreobjetos con solución de montaje Histomount™ (Usar solución de montaje GVA cuando se use AEC)	
Dejar secar antes de ver	10 minutos

DETECCIÓN Y DIAGNÓSTICO DE AVERÍAS

Problema	Solución
El control positivo muestra una inmunotinción débil	Verifique los demás controles positivos preparados durante esa misma serie con el instrumento para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.
El control positivo es negativo	Asegúrese de que el portaobjetos tenga la etiqueta con el código de barras de Ventana® correcta. Si está etiquetado correctamente, verifique los demás controles positivos preparados durante esa misma serie con el instrumento para determinar si se debe al anticuerpo primario o a uno de los reactivos secundarios comunes.

MARCAS COMERCIALES
Cap-*Plus*™, Clearmount™, Digest-All™, HistoGrip™, Histomount™, y Histostain®, NBA™, *PicTure*™ y Zymed® son marcas comerciales de Zymed Laboratories, Inc. Ventana® ES™, NexES® y BenchMark™ son marcas comerciales de Ventana® Medical Systems, Inc.

Los anticuerpos V-Line son elaborados exclusivamente por Zymed® Laboratories, Inc. y no implican ni la aprobación ni el aval de Ventana® Medical Systems, Inc. Las empresas Zymed® y Ventana® no están afiliadas, asociadas ni relacionadas de manera alguna.

Para obtener más información vea la versión inglesa de la ficha técnica o vaya a www.invitrogen.com.
TIENE ALGUNA PREGUNTA SOBRE ESTE PRODUCTO, DIRÍJASE A SU DISTRIBUIDOR LOCAL.

Representante autorizado de IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd.
Inchinnan Business Park
3 Fountain Drive
Paisley
PA4 9RF
UK

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

Souris anti-EGFr, Clone 31G7

Pour Utilisation de Diagnostiques In Vitro

[X] 08-4205 10 mL Anticorps de prédilution V-Line (prêt à l'emploi)

Optimisé pour les systèmes de coloration immunohistochimique Ventana® ES™, NexES® et BenchMark™

UTILISATION VOULUE

Pour Utilisation de Diagnostiques In Vitro. L'interprétation doit être faite par un pathologiste qualifié dans le cadre des antécédents cliniques du patient et d'autres tests de diagnostics.

REACTIF FOURNI

Souris anti-c-EGFr est purifié à partir de fluide ascite de souris et dilué dans du Phosphate Tamponné Salin (PBS), pH 7.4, et 1% d'albumine de sérum de bovin (BSA) avec 0.1% azide de sodium(NaN_3) comme préservatif.

Immunogène: EGFr humain dérivé de cellules A-431

Isotype: IgG_1

Clone: 31G7

Contrôle Positif: Cellules cancéreuses du sein

Modèle de Coloration Attendue: Membrane cellulaire et cytoplasmique

STOCKAGE : à 2-8°C

MATÉRIEL NÉCESSAIRE POUR LA COLORATION IMMUNOHISTOCHIMIQUE :

La prédilution V-Line de Invitrogen a été conçue pour être utilisée avec les systèmes de coloration immunohistochimique Ventana® ES™, NexES® et BenchMark™ en association avec les kits de détection Ventana® et les distributeurs de réactif Ventana®. Invitrogen® a titré et vérifié la qualité de cet anticorps afin de garantir une performance homogène et fiable. Le tableau 1 regroupe le matériel nécessaire pour l'immunocoloration.

Tableau 1

Matériel Nécessaire pour Tissu FFPE	**Spécification**
Recherche d'Epitope de Chaleur par Induction (HIER)	Pas Requis
Enzyme de digestion	Protease I
Enzyme d'Incubation	8 minutes
Incubation des anticorps primaires	32 minutes

MATERIELS NECESSAIRES MAIS PAS FOURNIS

Réactif	**Catalogue No.**
1. HistoGrip™	00-8050
2. PBS (0.01 M PBS)	00-3000
3. Mayer Hématoxyline	00-8011
4. Tampon citrate pH 6,0 (**si la RAC l'exige**)	00-5000
5. Solution EDTA (**si la RAC l'exige**)	00-5500

6. Systèmes de coloration immunohistochimique Ventana® ES™, NexES® ou BenchMark™
   - Étiquettes à code barres
   - Marqueur de lames automatisé ES™, NexES® ou BenchMark™
   - Kit de détection DAB ou AEC
   - Logiciel spécifique au kit de détection
   - Solution de lavage
   - Réactif de témoin négatif
   - Couvre-lames liquide
7. Solution de Monture: Histomount™ (pour DAB : Cat. No.00-8030), GVA (pour AEC, ou Rouge-Fixe : Cat. No. 00-8000), ou Clearmount™ (pour AEC, DAB, ou Rouge-Fixe : Cat. No. 00-8010).

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

PREPARATION DE SPECIMENS :

1. Utiliser un tissu fixé dans 10% Formaline Neutre Tamponnée ou autres fixatifs de base normale, ou des sections gelées de tissu.
2. Couper des sections 3-4 µm et placer sur des lames chargées positivement.
3. Sécher toute la nuit à 37° C ou pendant 2-4 hrs à 58°C.

PRETRAITEMENT

Recherche d'Epitope de Chaleur par Induction (HIER), si nécessaire

1. Déparaffiner les lames. Les sections de tissu doivent être montées sur du silane, du poly-L-Lysine, ou du HistoGrip (Cat. No. 00-8050) lames enduites.
2. Laver les lames dans 3 bains d'eau distillée pendant 2 min chacun.
3. Placer un bécher en verre 1L (Pyrex) contenant 500 mL de 0.01 M tampon de citrate (Cat. No. 00-5000) ou solution d'EDTA (Cat. No. 00-5500) sur une plaque chauffante. Chauffer la solution de tampon jusqu'à ébullition. *(Cette étape doit être préparée antérieurement au déparaffinage des lames, car porter le tampon à ébullition peut prendre plusieurs minutes).*
4. Mettre les lames sur une grille à lames et placer les dans le bécher avec le tampon en ébullition. Laisser bouillir pendant 15 minutes.
5. Après l'échauffement, retirer le bécher de la plaque chauffante et laisser le refroidir pour au moins 15-20 minutes à température ambiante.
6. Rincer les lames dans du PBS (Cat. No. 00-3000) et commencer le protocole d'immuno-coloration.

Enzyme de digestion, si nécessaire

1. Voir le tableau 1 pour la condition de digestion enzymatique spécifique et le temps d'incubation.

CHARGEMENT DU DISTRIBUTEUR TEL QUE DÉFINI PAR L'UTILISATEUR

Invitrogen® recommande l'utilisation de la procédure ci-après pour remplir les distributeurs de réactif Ventana® avec la prédilution V-Line de Invitrogen. Se reporter au manuel de l'utilisateur de Ventana® pour des détails supplémentaires.

1. Retirer le bouchon à l'extrémité de la seringue de transfert Ventana®, retirer ensuite complètement le piston du corps de pompe et remettre le bouchon dans le corps de pompe de la seringue.
2. Marquer de façon approprié le réactif Ventana® et la seringue de transfert avec l'anticorps de Invitrogen® utilisé.
3. Verser le flacon de prédilution V-Line inclus (10 mL, anticorps prêt à l'emploi) dans le corps de pompe de la seringue de transfert de Ventana®, ensuite remettre le piston dans le corps de pompe.
4. Retourner la seringue de transfert de Ventana® le bouchon tourné vers le haut et le piston vers le bas. Retirer ensuite le bouchon.
5. Chasser l'air de la seringue de transfert Ventana® en poussant doucement le piston vers le bouchon.
6. Retirer ensuite le bouchon de l'extrémité de la seringue de réactif Ventana®.
7. Attacher l'embout de la seringue de réactif Ventana® sur l'embout de la seringue de transfert Ventana®.
8. Faire passer l'anticorps de la seringue de transfert Ventana® dans la seringue de réactif Ventana®. La quantité maximale contenue dans la seringue de réactif Ventana® est de 12,5 mL ce qui permet d'effectuer environ 120 tests.
9. Poser l'étiquette de Invitrogen® ci-jointe sur la seringue de réactif de Ventana®.

L'anticorps de prédilution V-Line de Invitrogen est prêt à être utilisé avec les systèmes de coloration immunohistochimique de Ventana® ES™, NexES® et BenchMark™. Pour des détails spécifiques concernant le fonctionnement et la séquence des événements des systèmes de coloration immunohistochimique de Ventana® ES™, NexES® et BenchMark™, se reporter au manuel de l'utilisateur Ventana® en question.

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

CONTRECOLORATION ET CONSERVATION

Protocole	Durée
Contremarquer à l'hématoxyline	1 à 2 minutes
Laver à plusieurs reprises avec de l'eau du robinet jusqu'à ce l'eau soit bien claire	
Placer dans une solution d'azurage (par exemple, PBS à 10 mM, pH 7,4) à deux reprises	15 à 20 secondes
Laver dans de l'eau distillée à deux reprises	3 minutes en tout
Déshydrater ensuite dans de l'éthanol à 70 %, 95 %, 95 %, 100 %, et 100 %. Ensuite dans du xylène et xylène (Ne pas déshydrater lorsque l'AEC est utilisé)	2 minutes chacun
Appliquer le couvre-lames avec une solution de fixation Histomount™ (utiliser la solution de fixation GVA lorsque l'AEC est utilisé)	
Laisser sécher avant de visualiser	10 minutes

DÉPANNAGE

Problème	Solution
L'immunocoloration du témoin positif est faible	Examiner d'autres témoins positifs préparés au cours de la même analyse afin de déterminer si elle est due à l'anticorps primaire ou à un des réactifs communs secondaires.
Le témoin positif est négatif	Vérifier que la lame comprend la bonne étiquette de code barres de Ventana®. Si elle est bien étiquetée, vérifier d'autres témoins positifs préparés au cours de la même analyse afin de déterminer si c'est dû à l'anticorps primaire ou à un des réactifs communs secondaires.

MARQUE DE FABRIQUE
Cap-*Plus*™, Clearmount™, Digest-All™, HistoGrip™, Histomount™, et Histostain®, NBA™, *PicTure*™, et Zymed® sont des marques des Zymed Laboratories, Inc. Ventana® ES™, NexES® et BenchMark™ sont des marques déposées de Ventana® Medical Systems, Inc.

Les anticorps V-Line sont développés exclusivement par Zymed® Laboratories, Inc. et n'insinuent pas une approbation ou un soutien de la part de Ventana® Medical Systems, Inc. Zymed® et Ventana® ne sont en aucune façon affiliées ou associées.

Pour des informations plus détaillées, veuillez vous référer aux feuilles de données en version anglaise ou aller sur www.invitrogen.com.
SI VOUS AVEZ DES QUESTIONS SUR CE PRODUIT CONTACTEZ VOTRE DISTRIBUTEUR LOCAL.

Représentant Autorisé pour IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd.
Inchinnan Business Park
3 Fountain Drive
Paisley
PA4 9RF
UK

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

Topo anti-EGFr, Clone 31G7

Per uso diagnostico In Vitro

[X] 08-4205 10 mL Anticorpo prediluito V-Line (Pronto per l'uso)

Ottimizzato per i sistemi di colorazione immunoistochimica Ventana® ES ™, NexES® e BenchMark ™

SCOPI D'UTILIZZO

Per uso diagnostico In Vitro. L'interpretazione deve essere effettuata da un patologo qualificato entro il contesto dell'anamnesi clinica del paziente ed in considerazione di altri test diagnostici.

REAGENTI FORNITI

Topo anti-EGFr viene purificato da liquido ascitico di topo e diluito in soluzione salina tamponata al fosfato (PBS), pH 7,4, e 1% di albumina di siero bovino (BSA) con 0,1% sodio azide (NaN_3) come conservante.

Immunogeno: EGFr umano derivato dalle cellule A-431

Isotipo: IgG_1

Clone: 31G7

Controllo positivo: Carcinoma mammario

Modello di colorazione previsto: Membrana cellulare e citoplasmatica

CONSERVAZIONE: 2-8 °C

REQUISITI PER LA COLORAZIONE IMMUNOISTOCHIMICA:

L'Anticorpo diluito V-Line di Invitrogen è stato sviluppato per l'uso con i sistemi di colorazione immunoistochimica Ventana® ES™, NexES® e BenchMark™ insieme ai kit di rilevazione Ventana® e gli erogatori di reagente Ventana®. Invitrogen® ha titolato questo anticorpo e lo ha sottoposto ad un controllo della qualità per garantirne la performance coerente ed affidabile. La Tabella 1 elenca riassuntivamente i requisiti per l'immunocolorazione.

Tabella 1

Requisiti per Tessuto FFPE	**Specificazione**
Recupero di epitopi mediante calore (HIER)	Non Richiesto
Digestione enzimatica	Protease I
Incubazione enzimatica	8 minuti
Incubazione dell'anticorpo primario	32 minuti

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Reagente	**Catalogo n.**
1. HistoGrip™	00-8050
2. PBS (0,01 M PBS)	00-3000
3. Ematossilina di Mayer	00-8011
4. Soluzione tamponata a base di citrato pH 6,0 (**se necessaria per il HIER**))	00-5000
5. Soluzione a base di EDTA (**se necessaria per il HIER**))	00-5500

6. Sistemi di colorazione immunoistochimica Ventana® ES™, NexES® e BenchMark™
   - Etichette con codice a barre
   - Coloratori automatici di vetrini ES™, NexES® o BenchMark™
   - Kit di rilevazione DAB o AEC
   - Software specifico per il kit di rilevazione
   - Soluzione di lavaggio
   - Reagente controllo negativo
   - Coprivetrino liquido
7. Soluzione montante: Histomount™ (per DAB: Cat. n.00-8030), GVA (per AEC, oppure rosso solido: Cat. n. 00-8000), oppure Clearmount™ (per AEC, DAB, oppure rosso solido: Cat. n. 00-8010).

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

1. Utilizzare regolarmente tessuto fissato in 10% formalina neutra tamponata oppure in altro fissativo, o in alternativa sezioni di tessuto congelato.
2. Tagliare sezioni da 3-4 µm e collocarle su vetrini caricati positivamente.
3. Lasciare asciugare durante la notte a 37 ° C oppure per 2-4 ore a 58 °C.

PRETRATTAMENTO

Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) (Recupero di epitopi mediante calore) se richiesto

1. Deparaffinizzare i vetrini. Le sezioni dei tessuti dovrebbero essere montate su vetrini rivestiti di silano, poly-L-Lysine, oppure HistoGrip (Cat. n. 00-8050).
2. Lavare i vetrini con acqua distillata per 3 per 2 min. ciascuno.
3. Collocare un beker di vetro (Pyrex) da 1L contenente 500 mL di 0,01 M tampone citrato (Cat. n. 00-5000) o soluzione EDTA (Cat. No. 00-5500) su una piastra scaldante. Riscaldare la soluzione tampone sino a quando bolle. *(Questo passaggio può essere preparato prima della deparaffinizzazione del vetrino, poiché il tampone può richiedere diversi minuti per raggiungere il punto di ebollizione).*
4. Collocare i vetrini in un rack scorrevole e metterli nel beker con tampone bollente. Far bollire per 15 minuti.
5. Dopo il riscaldamento, togliere il beker dalla piastra scaldante e far raffreddare per almeno15-20 minuti a temperatura ambiente.
6. Risciacquare i vetrini con PBS (Cat. n. 00-3000) ed iniziare il protocollo di immunocolorazione.

Digestione Enzimatica, se richiesto

1. Per il tempo di incubazione ed i requisiti specifici per la digestione enzimatica, consultare la Tabella 1.

CARICAMENTO DELL'EROGATORE DEFINITO DALL'UTENTE

Invitrogen® raccomanda di osservare la seguente procedura per il riempimento degli erogatori di reagente Ventana® con l'anticorpo prediluito V-Line di Invitrogen. Per ulteriori chiarimenti, si prega di consultare il Manuale per l'utente Ventana®.

1. Rimuovere il tappo posto sull'estremità della siringa di trasferimento Ventana®, quindi estrarre completamente lo stantuffodal cilindro e rimettere il tappo sul cilindro della siringa.
2. **Etichettare debitamente la siringa per reagenti e la siringa di trasferimento Ventana® specificando il nome dell'anticorpo Invitrogen® utilizzato.**
3. Versare il contenuto della boccetta acclusa di anticorpo prediluito V-Line di Invitrogen (10 mL, anticorpo pronto per l'uso) nel cilindro della siringa di trasferimento Ventana®, quindi reinserire lo stantuffo nel cilindro.
4. Capovolgere la siringa di trasferimento Ventana® in modo che il tappo sia rivolto verso l'alto e lo stantuffo verso il basso. Quindi rimuovere il tappo.
5. Eliminare l'aria dalla siringa di trasferimento Ventana® spingendo cautamente lo stantuffo verso il tappo.
6. A questo punto, rimuovere il tappo dalla punta della siringa di trasferimento Ventana®.
7. Collegare l'ugello della siringa per reagenti Ventana® all'ugello della siringa di trasferimento Ventana®.
8. Erogare l'anticorpo dalla siringa di trasferimento Ventana® alla siringa per reagenti Ventana®. La siringa per reagenti Ventana® ha una capacità massima di 12,5 mL; ovvero un quantitativo sufficiente per eseguire 120 prove circa.
9. Attaccare l'etichetta acclusa Invitrogen® sulla siringa per reagenti Ventana®.

L'anticorpo prediluito V-Line di Invitrogen è fornito pronto per l'uso ed è da utilizzarsi con i sistemi di colorazione immunoistochimica Ventana® ES™, NexES® e BenchMark™. Per informazioni particolareggiate sul funzionamento e la sequenza procedurale dei sistemi di colorazione immunoistochimica Ventana® ES™, NexES® e BenchMark™, si prega di consultare i rispettivi Manuali per l'utente Ventana®.

CONTROCOLORAZIONE E CONSERVAZIONE

Protocollo	Tempo
Controcolorare con Ematossilina	1-2 minuti
Lavare in acqua di rubinetto, ricambiata diverse volte, finché il bagnomaria rimane limpido	
Immergere in soluzione azzurrante (ovvero, 10 mM di PBS, pH 7,4) eseguendo 2 ricambi	15-20 secondi
Lavare in acqua distillata, eseguendo 2 ricambi	3 minuti in tutto
Disidratare sequenzialmente in EtOH al 70%, 95%, 95%, 100% e 100%. Quindi in xilene e xilene (Non disidratare se si usa l'AEC)	2 minuti ciascuno
Applicare il coprivetrino con la Soluzione di fissaggio Histomount™ (Se si usa l'AEC, utilizzare la Soluzione di fissaggio GVA)	
Lasciare asciugare prima dell'osservazione	10 minuti

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Problema	Soluzione
Il controllo positivo mostra una immunocolorazione debole	Verificare altri controlli positivi preparati durante lo stesso ciclo di azionamento del dispositivo per stabilire se ciò è causato dall'anticorpo primario o da uno dei reagenti secondari comuni.
Il controllo positivo è negativo	Accertarsi che il vetrino abbia l'etichetta con il codice a barre Ventana® corretta. Qualora sia etichettato correttamente, controllare altri controlli positivi preparati durante lo stesso ciclo di azionamento del dispositivo per stabilire se ciò è causato dall'anticorpo primario o da uno dei reagenti secondari comuni.

MARCHI REGISTRATI
Cap-*Plus*™, Clearmount™, Digest-All™, HistoGrip™, Histomount™, e Histostain®, NBA™, *PicTure*™, e Zymed® sono marchi registrati di Zymed Laboratories, Inc. Ventana® ES™, NexES® e BenchMark™ sono marchi commerciali di proprietà di Ventana® Medical Systems, Inc.

Gli anticorpi V-Line sono sviluppati esclusivamente da Zymed® Laboratories, Inc. e non implicano alcuna autorizzazione o approvazione da parte di Ventana® Medical Systems, Inc. Zymed® e Ventana®non sono imprese consociate, affiliate o collegate in alcun altro modo.

Per informazioni più dettagliate vi preghiamo di consultare la versione inglese del catalogo oppure visitate il sito www.invitrogen.com.
SE AVETE DOMANDE SUL PRODOTTO, CONTATTATE IL VOSTRO DISTRIBUTORE PIÙ`VICINO.

Rappresentante Autorizzato per IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd.
Inchinnan Business Park
3 Fountain Drive
Paisley
PA4 9RF
UK

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

Maus Anti-EGFr, Klon 31G7

Für In Vitro Diagnostischen Gebrauch

[X] 08-4205 10 mL V-Line Vorverdünnung - (gebrauchsfertiger) Antikörper

Optimiert für die immunhistochemischen Färbungssysteme Ventana® ES™, NexES® und BenchMark™

BEABSICHTIGTER NUTZEN

Für In Vitro Diagnostischem Gebrauch. Die Interpretation muss im Zusammenhang mit der klinischen Vorgeschichte des Patienten und anderen Diagnostiktests eines qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

REAGENS GELIEFERT

Maus Anti-EGFr ist gereinigt von Maus asciter Flüssigkeit und verdünnt in Phosphatgepufferter Salzlösung (PBS), pH 7.4, und 1%igem Rinder Serum Albumin (BSA) mit 0.1% Sodium Azid (NaN_3) als ein Konservierungsmittel.

Immunogen: Humanes EGFr, abgeleitet aus A-431 Zellen

Isotyp: IgG_1

Klon: 31G7

Positive Kontrolle: Brustkarzinom

Erwartetes Färbungsmuster: Zellmenbran und cytoplasmatisch

LAGERUNG: 2-8°C

VORAUSSETZUNGEN FÜR DIE IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG:

Invitrogens V-Line Vorverdünnung wurde speziell für die Verwendung mit den immunhistochemischen Färbungssystemen Ventana® ES™, NexES® und BenchMark™in Verbindung mit Ventana® Detektionskits und Ventana® Reagenz-Dispensern entwickelt. Invitrogen® hat diesen Antikörper titriert und qualitätskontrolliert, um dessen konstante und zuverlässige Leistung zu gewährleisten. In Tabelle 1 sind die Voraussetzungen für die immunhistochemische Färbung zusammengefasst.

Tabelle 1

Voraussetzungen fur die FFPE Geweben	**Angabe**
Hitze Induzierte Epitop Wiedergewinnung (HIER)	Nicht benötigt
Enzym Verdauung	Protease I
Enzym Inkubation	8 Minuten
Inkubationsschritte für den primären Antikörper	32 Minuten

BENÖTIGTE, ABER NICHT GELIEFERTE MATERIALIEN

Reagens	**Katalog Nr.**
1. HistoGrip™	00-8050
2. PBS (0.01 M PBS)	00-3000
3. Mayer's Haematoxylin	00-8011
4. Zitratpuffer pH 6,0 (**falls für die durch Wärmeeinwirkung induzierte Wiedergewinnung der Epitope erforderlich**)	00-5000
5. EDTA-Lösung (**falls für die durch Wärmeeinwirkung induzierte Wiedergewinnung der Epitope erforderlich**)	00-5500

6. Immunhistochemische Färbungssysteme Ventana®ES™, NexES® oder BenchMark™
   - Strichcode-Etikett
   - Objektträger-Färbeautomaten ES™, NexES® oder BenchMark™
   - DAB- oder AEC-Detektionskit
   - Detektionskit-spezifische Software
   - Waschlösung
   - Negatives Kontrollreagenz
   - Flüssigkeits-Deckglas
7. Präparierungslösung: Histomount™ (für DAB: Cat. No.00-8030), GVA (für AEC, oder Lichtstark-Rot: Cat. Nr. 00-8000), oder Clearmount™ (für AEC, DAB, oder Lichtstark-Rot: Cat. Nr. 00-8010).

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

PROBEN PRÄPARATION

1. Gewebe in 10%igem neutral gepufferten Formalin fixiert oder anderen Fixiermitteln auf regelmäsiger Basis benutzen oder gefrorene Gewebesetionen.
2. 3-4 µm Sektionen schneiden und sie auf positiv gesättigte Objektträger legen.
3. Über Nacht bei 37° C trocknen oder für 2-4 Std. bei 58°C.

VORBEHANDLUNG

Hitze Induzierte Epitop Wiedergewinnung (HIER), wenn erforderlich

1. Objektträger deparaffinisieren. Gewebesektionen sollten auf Silane, Poly-L-Lysine oder HistoGrip präpariert werden (Cat. Nr. 00-8050) beschichtete Objektträger.
2. Objektträger mit destilliertem Wasser für jeweils 2 Min. waschen.
3. Ein 1L Becherglas (Pyrex), das 500 mL von 0.01 M Citrat Puffer (Cat. Nr. 00-5000) oder EDTA Lösung (Cat. Nr. 00-5500) enthält auf eine heiße Platte legen. Die Pufferlösung erhitzen bis sie kocht. *(Dieser Schritt kann vor der Objektträger Deparaffinisierung vorbereitet werden, da der Puffer mehrere Minuten braucht, bevor er kocht.)*
4. Die Objektträger in ein Objektträgergestell setzen und das Becherglas mit dem kochenden Puffer plazieren. Es 15 Minuten kochen lassen.
5. Nach der Erhitzung das Becherglas von der heissen Platte entfernen und es für mindestens 15-20 Minuten bei Zimmertemperatur abkühlen lassen.
6. Die Objektträger mit PBS (Cat. Nr. 00-3000) spülen und das Immunofärbungs-Protokoll beginnen.

Enzym-Verdauung, wenn benötigt

1. Spezifische Enzym-Digestionanforderungen und Inkubationszeiten sind Tabelle 1 zu entnehmen.

FÜLLEN DES VOM BENUTZER DEFINIERTEN DISPENSERS

Invitrogen empfiehlt die folgende Methode ®zum Füllen der Ventana® Reagenz-Dispenser mit Invitrogen V-Line Vorverdünnung. Weitere Anweisungen sind dem Ventana® Benutzerhandbuch zu entnehmen.

1. Den Verschluss am Ende der Ventana® Transferspritze entfernen, dann den Kolben ganz aus dem Zylinder herausziehen und den Verschluss wieder auf dem Spritzenzylinder anbringen.
2. **Die Ventana® Reagenz- und Transferspritze entsprechend mit dem verwendeten Invitrogen® Antikörper kennzeichnen.**
3. Das beiliegende Fläschchen mit V-Line Vorverdünnung (10 mL gebrauchsfertiger Antikörper) in den Zylinder der Ventana® Transferspritze geben und dann den Kolben wieder in den Zylinder schieben.
4. Die Ventana® Transferspritze invertieren. Dazu den Verschluss nach oben und den Kolben nach unten richten. Dann den Verschluss entfernen.
5. Zum Entlüften der Ventana® Transferspritze den Kolben vorsichtig in Richtung Verschluss schieben.
6. Dann den Verschluss von der Spitze der Ventana® Reagenzspritze abnehmen.
7. Die Ventana® Reagenzspritzendüse an der Ventana® Transferspritzendüse befestigen.
8. Antikörper aus der Ventana® Transferspritze in die Ventana® Reagenzspritze spritzen. Das maximale Fassungsvermögen der Ventana® Reagenzspritze beträgt 12,5 mL und reicht für etwa 120 Tests.
9. Das beiliegende Invitrogen® Etikett auf der Ventana® Reagenzspritze anbringen.

Der Invitrogen V-Line Vorverdünnungs-Antikörper kann jetzt mit den immunhistochemischen Färbungssystemen Ventana® ES™, NexES® und BenchMark™ eingesetzt werden. Spezifische Details zum Betrieb und zur Ereignissequenz der immunhistochemischen Färbungssysteme Ventana® ES™, NexES® und BenchMark™ sind den entsprechenden Ventana® Benutzerhandbüchern zu entnehmen.

GEGENFÄRBUNG UND KONSERVIERUNG

Protokoll	Zeit
Gegenfärbung mit Hämatoxylin	1-2 Minuten
Mehrmals in Leitungswasser waschen, bis das Wasserbad sauber bleibt	
Zweimal in Blaulösung platzieren (z.B. 10 mM PBS, pH 7,4)	15-20 Sekunden
Zweimal in destilliertem Wasser waschen	Insgesamt 3 Minuten
Nacheinander in 70%, 95%, 95%, 100% und 100% EtOH dehydrieren. Dann in Xylen und Xylen dehydrieren (Bei Verwendung von AEC nicht dehydrieren)	Je 2 Minuten
Deckglas mit Histomount™ Fixativ anbringen (für AEC muss GVA-Fixativ verwendet werden)	
Vor der Betrachtung trocknen lassen	10 Minuten

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

FEHLERBEHEBUNG

Problem	Lösung
Positive Kontrolle weist eine schwache Immunfärbung auf	Andere positive Kontrollen, die während desselben Verfahrens präpariert wurden, prüfen, um zu bestimmen, ob die Ursache der primäre Antikörper oder eines der allgemeinen sekundären Reagenzien ist.
Positive Kontrolle ist negativ	Sicherstellen, dass der Objektträger mit dem richtigen Ventana® Strichcode-Etikett gekennzeichnet ist. Bei richtiger Etikettierung müssen andere positive Kontrollen, die während desselben Verfahrens präpariert wurden, geprüft werden, um zu bestimmen, ob die Ursache der primäre Antikörper oder eines der allgemeinen sekundären Reagenzien ist.

WARENZEICHEN

Cap-*Plus*™, Clearmount™, Digest-All™, HistoGrip™, Histomount™, und Histostain®, NBA™, *PicTure*™, und Zymed® sind Warenzeichen der Zymed Laboratories, Inc. Ventana® ES™, NexES® und BenchMark™ sind Marken der Ventana® Medical Systems, Inc.

V-Line Antikörper werden ausschließlich von Zymed® Laboratories, Inc. entwickelt und wurden nicht durch Ventana® Medical Systems, Inc. genehmigt oder gefördert. Zymed® und Ventana® sind in keiner Weise angegliedert, aneinander angeschlossen bzw. miteinander verbunden.

Für genauere Information beziehen Sie sich bitte entweder auf die englische Version auf der Datenplatte oder auf www.invitrogen.com.
SOLLTEN SIE IRGENDWELCHE FRAGEN ÜBER DIESES PRODUKT HABEN, WENDEN SIE SICH BITTE AN IHREN ÖRTLICHEN VERTEILER.

Bevollmächtigter Repräsentant für IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd.
Inchinnan Business Park
3 Fountain Drive
Paisley
PA4 9RF
UK

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.